

下水処理システムにおける

活性汚泥微生物由来有機物に関する研究

学位論文内容の要旨

排水再利用において、生物処理水中有機物の管理は重要である。処理水中有機物は、下水中の難生物分解有機物および、下水処理システム内で生成される有機物で構成される。下水処理システム内の生成は、水処理過程および汚泥処理過程において生じる。特に汚泥処理過程では、余剰汚泥からの活性汚泥微生物由来有機物が溶出し、これらの有機物が処理水中難生物分解有機物負荷を増加させている。しかし、処理水中有機物の適切な評価方法が確立されていないため、有機物の総量の把握にとどまっているのが現状である。本論文では、下水処理水中難生物分解溶解性有機物の主要な構成要素と考えられる微生物由来有機物の評価方法を確立することを目的とし、実下水処理施設における難生物分解有機物の実態調査、微生物由来有機物の直接測定法の開発・適用および、バイオアッセイによる微生物由来有機物の処理水毒性発現への寄与の確認を行った結果を示した。

第一章は序論であり、排水再利用における生物処理水中有機物管理の必要性、従来の処理水中有機物評価方法および、本研究の目的について述べた。

第二章では、下水処理システムにおける難生物分解有機物の実態調査を行った結果について述べた。まず、各種汚泥処理返流水中有機物を生物分解性の観点から分画し、活性汚泥モデルシミュレーションにより、これら返流水中有機物の栄養塩除去への利用方策を検討した。その結果、汚泥集約処理時には、返流水を栄養塩除去の水素供与体として効果的に利用できるが、処理水中難生物分解有機物が増加することを確認した。次に、実処理場内における難生物分解有機物の実態調査を行い、濃縮槽、薬品調質および機械脱水工程から構成される処理場においては、水処理系の流入水中難生物分解有機物量に対して、約20%の負荷を返流水から与えていることを示した。また、実態調査および実験室における凝集実験より、返送汚泥の化学凝集過程で難生物分解有機物の増加、消化汚泥の凝集過程では減少が確認され、凝集過程において活性汚泥微生物からの難生物分解有機物の生成が推定された。汚泥から溶出する有機物は、フロック吸着有機物および微生物細胞由来有機物である。従来の有機物分類法ではこれらの区別が不可能であり、より詳細な検討のためには、微生物由来有機物量を直接測定可能な指標が必要であると考えられた。

第三章では、活性汚泥微生物由来有機物の測定法の開発を行った。まず、微生物由来有機物を直接測定可能な指標として、微生物細胞の構成物質であり、グラム陰性細菌細胞外

膜に存在するリポ多糖 (Lipopolysaccharide : LPS) の構成糖の一つである 2-ケト-3-デオキシオクタン酸 (2-keto-3-deoxyoctulosonic acid : KDO) を選択し、汚泥試料中での測定法を開発した。活性汚泥の自己酸化過程における汚泥試料中 KDO 測定を行った結果、曝気時間の増加に伴い KDO 濃度は増加することが確認された。また、超音波処理活性汚泥試料中の KDO の生成量 (Δ KDO) と、微生物菌体の減少量 ($-\Delta X_H$) との間に明確な比例関係を得ることができ、KDO の測定により微生物由来有機物の挙動を検出可能であることを確認した。新指標 KDO の適用性を評価するため、環境水 (土壌抽出水、下水コンポスト抽出水、河川水、下水処理水、コンポスト型バイオトイレリアクターマトリックス抽出水)、下水汚泥系試料 (返送汚泥ろ液、濃縮槽越流水、濃縮汚泥ろ液、脱水ろ液)、および回分式コンポスト型バイオトイレリアクターマトリックス抽出水について、KDO の測定を行った。その結果、これらの試料において KDO が測定可能であることが示された。

第四章では、活性汚泥微生物由来有機物の評価をバイオアッセイにより行った。まず、ヒト由来培養細胞系として、ヒト神経芽細胞腫細胞 (NB-1) を用いた下水処理系試料のバイオアッセイを行った結果、流入水と比較して生物処理水で毒性の増加が確認された。次に、処理水での毒性増加の原因を検討するために、汚泥の自己酸化過程における活性汚泥試料のバイオアッセイを NB-1 およびヒト乳癌細胞 (MCF-7) を用いて行った。その結果、反応槽での毒性の増加は、親水性の活性汚泥微生物由来有機物の生成によるものであることが示された。また、処理水の毒性に寄与する原因物質を特定するために、プロテオームアッセイを用いた評価を行った。自己酸化活性汚泥試料についてヒト大腸癌細胞 (Caco-2) を用いたアッセイを行ったところ、24 時間曝気試料において、コントロールには見られない特異スポットを検出した。次に、活性汚泥の自己酸化過程で溶出する LPS のアッセイを行ったところ、LPS 220 μ g/ml において自己酸化活性汚泥試料と同一のスポットの出現が確認された。このスポットの質量分析 (Time of flight mass spectrometry (TOF-MS)) の結果、発現蛋白質は熱ショック蛋白質 90b (Hsp90b) と同定された。これらのことから、活性汚泥系試料において生成される微生物由来有機物の中で、ヒト細胞に影響を与える原因物質の一つはリポ多糖 (LPS) であることが示された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 船 水 尚 行

副 査 教 授 渡 辺 義 公

副 査 助 教 授 岡 部 聡

学 位 論 文 題 名

下水処理システムにおける

活性汚泥微生物由来有機物に関する研究

排水再利用において、生物処理水中有機物の管理は重要である。処理水中有機物は、下水中の難生物分解有機物および、下水処理システム内で生成される有機物で構成される。下水処理システム内の生成は、水処理過程および汚泥処理過程において生じる。特に汚泥処理過程では、余剰汚泥からの活性汚泥微生物由来有機物が溶出し、これらの有機物が処理水中難生物分解有機物負荷を増加させている。しかし、処理水中有機物の適切な評価方法が確立されていないため、有機物の総量の把握にとどまっているのが現状である。本論文では、下水処理水中難生物分解溶解性有機物の主要な構成要素と考えられる微生物由来有機物の評価方法を確立することを目的とし、実下水処理施設における難生物分解有機物の実態調査、微生物由来有機物の直接測定法の開発・適用および、バイオアッセイによる微生物由来有機物の処理水毒性発現への寄与の確認を行った結果を示した。

第一章は序論であり、排水再利用における生物処理水中有機物管理の必要性、従来の処理水中有機物評価方法および、本研究の目的について述べた。

第二章では、下水処理システムにおける難生物分解有機物の実態調査を行った結果について述べた。まず、各種汚泥処理返流水中有機物を生物分解性の観点から分画し、活性汚泥モデルシミュレーションにより、これら返流水中有機物の栄養塩除去への利用方策を検討した。その結果、汚泥集約処理時には、返流水を栄養塩除去の水素供与体として効果的に利用できるが、処理水中難生物分解有機物が増加することを確認した。次に、実処理場内における難生物分解有機物の実態調査を行い、濃縮槽、薬品調質および機械脱水工程から構成される処理場においては、水処理系の流入水中難生物分解有機物量に対して、約20%の負荷を返流水から与えていることを示した。また、実態調査および実験室における凝集実験より、返送汚泥の化学凝集過程で難生物分解有機物の増加、消化汚泥の凝集過程では減少が確認され、凝集過程において活性汚泥微生物からの難生物分解有機物の生成が推定された。汚泥から溶出する有機物は、フロック吸着有機物および微生物細胞由来有機物である。従来の有機物分類法ではこれらの区別が不可能であり、より詳細な検討のためには、

微生物由来有機物量を直接測定可能な指標が必要であると考えられた。

第三章では、活性汚泥微生物由来有機物の測定法の開発を行った。まず、微生物由来有機物を直接測定可能な指標として、微生物細胞の構成物質であり、グラム陰性細菌細胞外膜に存在するリポ多糖 (Lipopolysaccharide : LPS) の構成糖の一つである 2-ケト-3-デオキシオクタン酸 (2-keto-3-deoxyoctulosonic acid : KDO) を選択し、汚泥試料中での測定法を開発した。活性汚泥の自己酸化過程における汚泥試料中 KDO 測定を行った結果、曝気時間の増加に伴い KDO 濃度は増加することが確認された。また、超音波処理活性汚泥試料中の KDO の生成量 (Δ KDO) と、微生物菌体の減少量 ($-\Delta X_H$) との間に明確な比例関係を得ることができ、KDO の測定により微生物由来有機物の挙動を検出可能であることを確認した。新指標 KDO の適用性を評価するため、環境水 (土壌抽出水、下水コンポスト抽出水、河川水、下水処理水、コンポスト型バイオトイレリアクターマトリックス抽出水)、下水汚泥系試料 (返送汚泥ろ液、濃縮槽越流水、濃縮汚泥ろ液、脱水ろ液)、および回分式コンポスト型バイオトイレリアクターマトリックス抽出水について、KDO の測定を行った。その結果、これらの試料において KDO が測定可能であることが示された。

第四章では、活性汚泥微生物由来有機物の評価をバイオアッセイにより行った。まず、ヒト由来培養細胞系として、ヒト神経芽細胞腫細胞 (NB-1) を用いた下水処理系試料のバイオアッセイを行った結果、流入水と比較して生物処理水で毒性の増加が確認された。次に、処理水での毒性増加の原因を検討するために、汚泥の自己酸化過程における活性汚泥試料のバイオアッセイを NB-1 およびヒト乳癌細胞 (MCF-7) を用いて行った。その結果、反応槽での毒性の増加は、親水性の活性汚泥微生物由来有機物の生成によるものであることが示された。また、処理水の毒性に寄与する原因物質を特定するために、プロテオームアッセイを用いた評価を行った。自己酸化活性汚泥試料についてヒト大腸癌細胞 (Caco-2) を用いたアッセイを行ったところ、24 時間曝気試料において、コントロールには見られない特異スポットを検出した。次に、活性汚泥の自己酸化過程で溶出する LPS のアッセイを行ったところ、LPS 220 μ g/ml において自己酸化活性汚泥試料と同一のスポットの出現が確認された。このスポットの質量分析 (Time of flight mass spectrometry (TOF-MS)) の結果、発現蛋白質は熱ショック蛋白質 90b (Hsp90b) と同定された。これらのことから、活性汚泥系試料において生成される微生物由来有機物の中で、ヒト細胞に影響を与える原因物質の一つはリポ多糖 (LPS) であることが示された。

これを要するに、著者は下水処理システムにおける活性汚泥微生物由来微生物の測定・評価法を開発し、その実用性を明らかにするとともに、下水道システムにおける活性汚泥微生物由来有機物の挙動ならびにヒト細胞に与える影響について新知見を得ており、下水道工学、排水処理工学に貢献すること大なるものがある。よって、著者は、北海道大学博士 (工学) の学位を授与される資格あるものと認める。